

DIALOG(R)File 352:DERWENT WPI  
(c)1998 Derwent Info Ltd. All rts. reserv.

010509942     \*\*Image available\*\*

WPI Acc No: 96-006893/\*199601\*

XRAM Acc No: C96-001862

Cachexia improving agents – comprise thiazolidine deriv. for inhibiting  
prodn. of TNF alpha

Patent Assignee: SANKYO CO LTD (SANY   )

Number of Countries: 001    Number of Patents: 001

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Main IPC	Week
JP 7285864	A	19951031	JP 9478291	A	19940418	A61K-031/425	199601 B

Priority Applications (No Type Date): JP 9478291 A 19940418

Patent Details:

Patent	Kind	Lán	Pg	Filing Notes	Application	Patent
JP 7285864	A		8			

Abstract (Basic): JP 7285864 A

Cachexia improving agent comprises a thiazolidine deriv. of formula  
(I) or their salts. R1, R2, R4 and R5 = H or lower alkyl; R3 = aromatic  
acyl opt. substd. by aliphatic acyl; or lower alkoxycarbonyl.

USE – The agent is effective for the treatment of cachexia caused  
by cancer, (parasite) infection or thyroid gland.

ADVANTAGE – (I) inhibit the prodn. of TNF, responding reaction of  
TNF and catabolism of the protein caused by TNF. It improves the  
reliability of chemotherapy, and surgery, and quality of life of the  
patients, resulting in a decrease in the mortality rate.

Dwg.0/0

Title Terms: CACHEXIA; IMPROVE; AGENT; COMPRISE; THIAZOLIDINE; DERIVATIVE;  
INHIBIT; PRODUCE; TNF; ALPHA

Derwent Class: B02

International Patent Class (Main): A61K-031/425

International Patent Class (Additional): C07D-417/12; C07D-277-34;  
C07D-311-58

File Segment: CPI

(19)日本国特許庁 (J P)

(12)公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平 7 - 2 8 5 8 6 4

(43)公開日 平成 7 年 (1995) 10 月 31 日

(51)Int.Cl.<sup>6</sup>  
A61K 31/425

識別記号 庁内整理番号 F I  
AGZ  
ABD  
ABE  
ADD  
ADU

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数 13 O L (全 8 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願平 6 - 7 8 2 9 1

(22)出願日 平成 6 年 (1994) 4 月 1 8 日

(71)出願人 0 0 0 0 0 1 8 5 6

三共株式会社

東京都中央区日本橋本町 3 丁目 5 番 1 号

(72)発明者 堀越 大能

東京都品川区広町 1 丁目 2 番 5 8 号 三共  
株式会社内

(72)発明者 吉岡 慎二

東京都品川区広町 1 丁目 2 番 5 8 号 三共  
株式会社内

(72)発明者 藤原 俊彦

東京都品川区広町 1 丁目 2 番 5 8 号 三共  
株式会社内

(74)代理人 弁理士 大野 彰夫 (外 2 名)

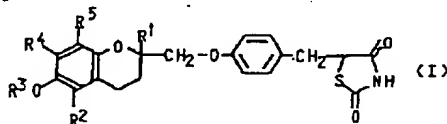
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 悪液質改善剤

(57)【要約】

【構成】 一般式

【化 1】



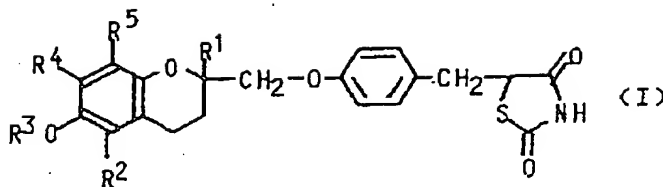
(式中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup> および R<sup>4</sup> は同一または異なって水素原子または低級アルキル基を示す。R<sup>5</sup> は水素原子、脂肪族アシル基、置換分を有していてもよい芳香族アシル基または低級アルコキシカルボニル基を示す。) を有するチアゾリジン誘導体またはその薬理上許容される塩を有効成分とする悪液質改善剤。

【効果】 本発明の化合物は、悪液質改善剤として有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】一般式

【化 1】



(式中、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$  および  $R^4$  は同一または異なって水素原子または低級アルキル基を示す。 $R^5$  は水素原子、脂肪族アシル基、置換分を有していてもよい芳香族アシル基または低級アルコキシカルボニル基を示す。)を有するチアゾリジン誘導体またはその薬理上許容される塩を有効成分とする悪液質改善剤。

【請求項 2】【請求項 1】記載の化合物において、

$R^1$  が直鎖状もしくは分枝鎖状の炭素数 1 乃至 4 個を有する低級アルキル基を示し； $R^2$  が水素原子または直鎖状もしくは分枝鎖状の炭素数 1 乃至 3 個を有する低級アルキル基を示し； $R^3$  が水素原子、直鎖状もしくは分枝鎖状の炭素数 1 乃至 4 個を有する脂肪族アシル基、置換分を有しない炭素数 7 乃至 11 個を有する芳香族アシル基または直鎖状もしくは分枝鎖状の炭素数 2 乃至 4 個を有する低級アルコキシカルボニル基を示し； $R^4$  が直鎖状もしくは分枝鎖状の炭素数 1 乃至 4 個を有する低級アルキル基を示し； $R^5$  が水素原子または直鎖状もしくは分枝鎖状の炭素数 1 乃至 3 個を有する低級アルキル基を示す；チアゾリジン誘導体またはその薬理上許容される塩を有効成分とする悪液質改善剤。

【請求項 3】【請求項 1】記載の化合物において、

$R^1$  が直鎖状もしくは分枝鎖状の炭素数 1 乃至 4 個を有する低級アルキル基を示し； $R^2$  が水素原子または直鎖状もしくは分枝鎖状の炭素数 1 乃至 3 個を有する低級アルキル基を示し； $R^3$  が水素原子、アセチル基、ベンゾイル基またはエトキシカルボニル基を示し； $R^4$  が直鎖状もしくは分枝鎖状の炭素数 1 乃至 4 個を有する低級アルキル基を示し； $R^5$  が水素原子または直鎖状もしくは分枝鎖状の炭素数 1 乃至 3 個を有する低級アルキル基を示す；チアゾリジン誘導体またはその薬理上許容される塩を有効成分とする悪液質改善剤。

【請求項 4】【請求項 1】記載の化合物において、

$R^1$  がメチル基を示し； $R^2$  が水素原子またはメチル基を示し； $R^3$  が水素原子、アセチル基またはエトキシカルボニル基を示し； $R^4$  がメチル基または $\alpha$ -ブチル基を示し； $R^5$  が水素原子またはメチル基を示す；チアゾリジン誘導体またはその薬理上許容される塩を有効成分とする悪液質改善剤。

【請求項 5】【請求項 1】記載の化合物において、

1) 5-[4-(6-ヒドロキシ-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-2-メトキシ)ベンジル]チアゾリジン-2, 4-ジオン、

2) 5-[4-(6-ヒドロキシ-2-メチル-7-ターシャリーブチルクロマン-2-メトキシ)ベンジル]チアゾリジン-2, 4-ジオン、

3) 5-[4-(6-ヒドロキシ-2-エチル-5, 7, 8-トリメチルクロマン-2-メトキシ)ベンジル]チアゾリジン-2, 4-ジオン、

4) 5-[4-(6-ヒドロキシ-2-イソブチル-5, 7, 8-トリメチルクロマン-2-メトキシ)ベンジル]チアゾリジン-2, 4-ジオン、

5) 5-[4-(6-アセトキシ-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-2-メトキシ)ベンジル]チアゾリジン-2, 4-ジオン、

6) 5-[4-(6-エトキシカルボニルオキシ-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-2-メトキシ)ベンジル]チアゾリジン-2, 4-ジオン、またはその薬理上許容される塩を有効成分とする悪液質改善剤。

【請求項 6】【請求項 1】記載の化合物において、

1) 5-[4-(6-ヒドロキシ-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-2-メトキシ)ベンジル]チアゾリジン-2, 4-ジオン、

2) 5-[4-(6-ヒドロキシ-2-メチル-7-ターシャリーブチルクロマン-2-メトキシ)ベンジル]チアゾリジン-2, 4-ジオン、

3) 5-[4-(6-エトキシカルボニルオキシ-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-2-メトキシ)ベンジル]チアゾリジン-2, 4-ジオン、またはその薬理上許容される塩を有効成分とする悪液質改善剤。

【請求項 7】【請求項 1】記載の化合物において、

1) 5-[4-(6-ヒドロキシ-2, 5, 7, 8-テトラメチルクロマン-2-メトキシ)ベンジル]チアゾリジン-2, 4-ジオン、またはその薬理上許容される塩を有効成分とする悪液質改善剤。

【請求項 8】【請求項 1】ないし【請求項 7】において、悪液質が癌悪液質である悪液質改善剤。

【請求項 9】【請求項 1】ないし【請求項 7】において、悪液質が感染性悪液質である悪液質改善剤。

【請求項 10】【請求項 1】ないし【請求項 7】において、悪液質が甲状腺悪液質である悪液質改善剤。

【請求項 11】【請求項 1】ないし【請求項 7】において、悪液質が寄生虫感染による悪液質である悪液質改善剤。

【請求項 12】【請求項 1】ないし【請求項 7】において

て、悪液質が炎症性悪液質である悪液質改善剤。

【請求項13】 【請求項1】 ないし 【請求項7】 において、悪液質が後天性免疫不全症による悪液質である悪液質改善剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明はチアゾリジン誘導体を有効成分とする悪液質改善剤に関する。

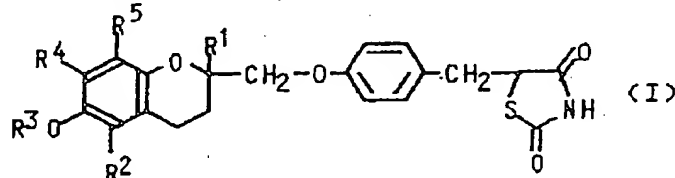
【0002】

【従来の技術】 癌や慢性感染症の患者では、しばしば著しい体重減少、食欲不振、貧血、無力症、吐き気等の症状を伴う (Lawson D.H. ら、Ann. Rev. Nutr., 2 巻、277-301 頁 (1982年) ; Starin A.J., Invest. Cell. Pathol., 2 巻、181-193頁 (1979年) ; Theologides A., Cancer, 43 巻、2004-2012 頁 (1979年))。

【0003】 そして、これらの全身的な衰弱を伴う一連の症状を悪液質という。例えば癌悪液質、感染性悪液質、甲状腺悪液質、寄生虫感染による悪液質、炎症性悪液質、後天性免疫不全症 (AIDS) による悪液質等が知られている。これらの悪液質状態は例えば急性期の死亡率を増大させ、癌に対する化学療法や放射線療法、外科手術への耐久度を下げることになる (Dewys W.D. ら、Am. J. Med., 69 巻、491-497頁 (1980年) ; Dwyer J. T., Cancer, 43 巻、2077-2086頁 (1979年) ; Donaldson S.S. ら、Cancer, 43 巻、2036-2052頁 (1979年))。

【0004】 そこで、これらの悪液質の改善を行うため、例えば末期癌患者に対し、高脂肪食や高糖質食を与える、または高カロリー輸液を行う等の試みがなされてきたが、悪液質の解消は依然として見られていない (Brannan M.P., Cancer Res., 37巻、2359-2364 頁 (1977年) ; Young V.R., Cancer Res., 37巻、2336-2347 頁 (1979年))。

【0005】 上記のような実情から、現段階では悪液質を改善したり、または治療することは困難であり、悪液質に有効な改善薬の研究が各所で長年にわたり行われているが、未だに完全に成功した例はない。



【0010】 (式中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup> および R<sup>4</sup> は同一または異なって水素原子または低級アルキル基を示す。R<sup>5</sup> は水素原子、脂肪族アシル基、置換分を有していてもよい芳香族アシル基または低級アルコキシカルボニル基を示す。) を有するチアゾリジン誘導体またはその薬理上許容される塩を有効成分とする悪液質改善に

【0006】 ところで、悪液質の成因については様々な報告がある。例えば、TNF (腫瘍壊死因子) / カケチンを含むサイトカイン類が癌悪液質と関連した窒素の消費に関与することが指摘されている (Warren R.S., Arch. Surg., 122 巻、1396-1400 頁 (1987年) ; Starnes H.F. ら、J. Clin. Invest., 82 巻、1321-1325 頁 (1988年))。また、動物に TNF $\alpha$  を注射すると敗血症性ショック症状を起こしたり、腸の壊死や急性肺損傷を引き起こし、筋蛋白質の異化を促進することが知られている (Tracey K.J. および Cerami A., Ann. Rev. Cell Biol., 9 巻、317-343 頁 (1993年))。そして、このような悪液質と呼ばれる症状のうち、特に著しい体重減少は筋肉等での蛋白質の異化が異常に亢進していることに由来すると考えられている (Argiles J.M. ら、Med. Res. review, 12 巻、637-652 頁 (1992年))。また、このような状態下では TNF の産生亢進のみならず、TNF の応答反応の亢進状態が認められる (Haug Z.B. ら、Chest, 104 巻、751-755 頁 (1993年) ; Antinori A. ら、Allegol. Immunopathol. Madr., 20 巻、249-254 頁 (1992年))。従って、悪液質状態下で見られる TNF の産生を抑制すること、TNF の応答反応を抑制すること、および蛋白質異化の亢進を抑制することは、悪液質の改善につながり、ひいては患者の治療時における耐久度を上げるのみでなく、患者のクオリティオブライフを向上し、患者の延命にもつなぐと期待される。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】 本発明者らは悪液質改善を目的として研究した結果、チアゾリジン誘導体が TNF の産生を抑制すること、TNF の応答反応を抑制すること、および蛋白質の異化、即ち、尿中排泄率および窒素摂取量から尿中窒素排泄量を除いた窒素平衡を有意に改善する作用を有することを見出し、本発明を完成した。

【0008】

【課題を解決するための手段】 本発明は一般式

【0009】

【化2】

する。

【0011】 前記一般式 (I) において、R<sup>1</sup> が低級アルキル基を示す場合、該アルキル基としては例えばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、ペンチルのような直鎖状もしくは分枝鎖状の炭素数 1 乃至 5 個、好適には 1 乃至 4 個、最適にはメチル、



をあげることができる。

【0012】 $R^1$  および $R^2$  が低級アルキル基を示す場合、該アルキル基としては例えばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、ペンチルのような直鎖状もしくは分枝鎖状の炭素数1乃至5個、好適には1乃至3個、最適にはメチル、をあげることができる。

【0013】 $R^1$  が脂肪族アシル基を示す場合、該アシル基としては例えばホルミル、アセチル、プロピオニル、ブチリル、イソブチリル、ペンタノイル、ヘキサノイル、ヘプタノイルのよう直鎖状もしくは分枝鎖状の炭素数1乃至7個、好適には1乃至4個、最適にはアセチル、をあげることができる。

【0014】 $R^1$  が置換分を有していてもよい芳香族アシル基を示す場合、該アシル基としては例えばベンゾイル、4-ニトロベンゾイル、3-フルオロベンゾイル、2-クロロベンゾイル、3、4-ジクロロベンゾイル、4-アミノベンゾイル、3-ジメチルアミノベンゾイル、2-メトキシベンゾイル、3、5-ジ-*t*-ブチル-4-ヒドロキシベンゾイル、1-ナフトイルのよう置換分として1乃至3個のニトロ、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アルコキシ、ハロ、アルキル、ヒドロキシを有していてもよい炭素数7乃至11個を有する芳香族アシル基、好適には置換分を有しない炭素数7乃至11個を有する芳香族アシル基、最適にはベンゾイル、をあげることができる。

【0015】 $R^1$  が低級アルコキシカルボニル基を示す場合、該アルコキシカルボニル基としては例えばメトキシカルボニル、エトキシカルボニル、プロポキシカルボニル、イソプロポキシカルボニル、ブトキシカルボニル、ペンチルオキシカルボニルのよう直鎖状もしくは分枝鎖状の炭素数2乃至7個、好適には2乃至4個、最適にはエトキシカルボニル、をあげることができる。

【0016】 $R^1$  が低級アルキル基を示す場合、該アルキル基としては例えばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、*t*-ブチル、ペンチルのよう直鎖状もしくは分枝鎖状の炭素数1乃至5個、好適には1乃至4個、最適にはメチル、*t*-ブチル、特にメチル、をあげることができる。

【0017】本発明の前記一般式(I)を有する化合物は薬理上許容される無毒性の塩の形で使用することもできる。そのような塩としては、例えばナトリウム、カリウムのようなアルカリ金属；カルシウムのようなアルカリ土類金属；リジン、アルギニンのような塩基性アミノ酸；との塩をあげることができる。更に前記一般式

(I)を有する化合物が塩基性の基を有する場合には薬

理上許容される無毒性の酸付加塩の形で使用することもできる。そのような塩としては、例えば塩酸、硫酸、硝酸、リン酸のような無機酸；酢酸、コハク酸、マレイン酸、フマル酸、リンゴ酸、グルタミン酸、アスパラギン酸、 $\alpha$ -トールエンスルホン酸、メタンスルホン酸のよう有機酸；との塩をあげることができる。

【0018】なお、本発明の前記一般式(I)を有する化合物において、クロマン環の2位およびチアゾリジン環の5位の炭素原子はそれぞれ不斉炭素原子であり、これらに基づく各立体異性体も本発明の化合物に含まれる。

【0019】本発明の前記一般式(I)を有する化合物において、好ましくは $R^1$  は直鎖状もしくは分枝鎖状の炭素数1乃至4個を有する低級アルキル基を示し； $R^2$  は水素原子または直鎖状もしくは分枝鎖状の炭素数1乃至3個を有する低級アルキル基を示し； $R^3$  は水素原子、直鎖状もしくは分枝鎖状の炭素数1乃至4個を有する脂肪族アシル基、置換分を有しない炭素数7乃至11個を有する芳香族アシル基または直鎖状もしくは分枝鎖状の炭素数2乃至4個を有する低級アルコキシカルボニル基を示し； $R^4$  は直鎖状もしくは分枝鎖状の炭素数1乃至4個を有する低級アルキル基を示し； $R^5$  は水素原子または直鎖状もしくは分枝鎖状の炭素数1乃至3個を有する低級アルキル基を示す。

【0020】本発明の前記一般式(I)を有する化合物において、更に好ましくは $R^1$  は直鎖状もしくは分枝鎖状の炭素数1乃至4個を有する低級アルキル基を示し； $R^2$  は水素原子または直鎖状もしくは分枝鎖状の炭素数1乃至3個を有する低級アルキル基を示し； $R^3$  は水素原子、アセチル基、ベンゾイル基またはエトキシカルボニル基を示し； $R^4$  は直鎖状もしくは分枝鎖状の炭素数1乃至4個を有する低級アルキル基を示し； $R^5$  は水素原子または直鎖状もしくは分枝鎖状の炭素数1乃至3個を有する低級アルキル基を示す。

【0021】本発明の前記一般式(I)を有する化合物において、特に好ましくは $R^1$  はメチル基を示し； $R^2$  は水素原子またはメチル基を示し； $R^3$  は水素原子、アセチル基またはエトキシカルボニル基を示し； $R^4$  はメチル基または*t*-ブチル基を示し； $R^5$  は水素原子またはメチル基を示す。

【0022】本発明の前記一般式(I)を有する化合物の具体例としては、例えば表1に示すような構造式を有する化合物があげられる。

【0023】

【表1】

例示化合物番号	$R^1$	$R^2$	$R^3$	$R^4$	$R^5$
1	Me	Me	H	Me	Me

7

8

2	H	Me	H	Me	Me
3	Me	H	H	H	H
4	Me	H	H	tBu	H
5	Et	Me	H	Me	Me
6	iBu	Me	H	Me	Me
7	Pn	Me	H	Me	Me
8	Me	Me	Ac	Me	Me
9	Me	Me	Bz	Me	Me
10	Me	Me	EtC	Me	Me
11	Me	H	Ac	Me	H
12	Me	H	H	Me	H
13	Me	Me	Byr	Me	Me

【0024】表中、Me=メチル、Et=エチル、iBu=イソブチル、tBu=ターシャリーブチル、Pn=ベンチル、Ac=アセチル、Byr=ブチリル、Bz=ベンゾイル、EtC=エトキシカルボニル、を示す。

【0025】本発明の前記一般式(I)を有する化合物において、好ましくは例示化合物番号 1、4、5、6、8、10 の化合物であり、更に好ましくは 1、4、10 の化合物であり、特に好ましくは 1 の化合物である。

【0026】本発明の前記一般式(I)を有する化合物は公知の化合物であり、例えば特開昭60-51189号公報、米国特許第 4、572、912号公報、ヨーロッパ特許第 0139421号公報に記載されている。

【0027】本発明の前記一般式(I)を有する化合物はそのまま、またはその薬理上許容される塩の形で使用される。

【0028】本発明の前記一般式(I)を有する化合物が悪液質改善作用を有することは、次の方法により測定できる。

【0029】TNF産生を抑制する作用は次の方法により測定する。即ち、Daniel-Issakaniらの方法(J.Biol.Chem., 264巻、20240-20247頁(1989年))に準じてヒト単球系細胞U937を分化誘導させ、LPS(Lipopolysaccharide)添加(LPS処理対照細胞)および薬物の同時添加によるTNF産生量を測定する。LPS処理対照細胞での産生量からLPS無処理細胞での産生量を引いた数値を抑制率 0%として、薬物処理細胞での産生量からLPS無処理細胞での産生量を引いた数値より抑制率を算出する。

【0030】次に、TNF応答反応を抑制する作用は次の方法により測定する。即ち、ヒト乳癌株MCF-7細胞(TNF高感受性細胞)に、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)のプロモーター領域であるHIV-LTR(long-terminal repeat)の下流にルシフェラーゼ遺伝子を接続した発現ベクター(HIV-LTR-luciferase)をTNFリポーター

遺伝子として導入し(D.Weissmann et al., Proc.Natl. Acad.Sci. USA、90巻、2537-2541頁(1993年))、TNF(ヒトリコンビナントTNF $\alpha$ )添加によるHIV-LTRのトランジェントな発現誘導をルシフェラーゼ遺伝子の発現に置き換えて、化学発光法にてルシフェラーゼ活性を測定する。

【0031】次に、蛋白質の抗異化作用は次の方法により測定する。即ち、生体内の蓄積蛋白は分解されると尿素窒素として尿中に排泄されるため、尿中窒素排泄量を蛋白分解の指標とする(Flores EA. et al., J.Clin. Invest. 83巻、1614-1622頁(1989年))。そこで、例えばウィスター系今道ラットを任意に対照群と薬物投与群とに分け、対照群は更にTNFを投与しない正常対照群とTNFを投与するTNF投与対照群に分け、薬物投与群はTNF投与開始時に経口投与し、一定期間経過後に摂餌量と尿量を測定し、摂取した餌中の窒素含量から尿中窒素排泄量を引いて、窒素平衡を算出することにより、蛋白質の抗異化作用を見ることができる。

【0032】

【作用】本発明の前記一般式(I)を有する化合物またはその薬理上許容される塩は、悪液質改善、特に癌悪液質、感染性悪液質、甲状腺悪液質、寄生虫感染による悪液質、炎症性悪液質、後天性免疫不全症(AIDS)による悪液質等の改善として有用である。

【0033】本発明の前記一般式(I)を有する化合物またはその薬理上許容される塩は種々の形態で投与される。その投与形態としては例えば錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、シロップ剤等による経口投与または注射剤(静脈内、筋肉内、皮下)、点滴剤、坐剤等による非経口投与をあげることができる。これらの各種製剤は、常法に従って主薬に賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、矯味矯臭剤、溶解補助剤、懸濁剤、コーティング剤等の医薬の製剤技術分野において通常使用しうる既知の補助剤を用いて製剤化することができる。その使用量は症状、年齢、体重、投与方法および剤型等によって異なるが通常は成人に対して1日50mg乃至5000mgを投与することができる。



【0034】

【実施例】以下に実施例、試験例および製剤例をあげて本発明を更に具体的に説明する。

#### 実施例1. TNF $\alpha$ 産生抑制作用

ヒト単球系細胞U937の分化誘導はDaniel-Issakaniらの方法(J. Biol. Chem., 264巻、20240-20247頁(1989年))に準じて以下のように行った。即ち、ヒト単球系細胞U937を30ng/mlのTPAを添加した培養液中、72時間培養し、分化誘導させた。次に、培養液上清を除去し、LPS (Lipopolysaccharide) 10ng/mlを含む培養液を添加した(以下、「LPS処理細胞」という)。LPS無処理細胞には同容量の培養液を添加した。更に、LPS処理細胞には例示化合物番号1. の化合物を $10^{-5}$ M (4. 4

$\mu\text{g/ml}$ ) 培養液に溶解し、LPSと同時に添加した(以下、「化合物1. 処理細胞」という)。化合物1. 処理細胞の対照細胞には同容量の培養液を添加した(以下、「LPS処理対照細胞」という)。LPS添加から6時間経過後にTNF $\alpha$ の産生量をELISA KIT (ENDOGEN社製) により測定した。測定数値は平均値 $\pm$ 標準誤差で示した。

【0035】LPS処理対照細胞での産生量からLPS無処理細胞での産生量を引いた数値を抑制率 0%として、化合物1. 処理細胞での産生量からLPS無処理細胞での産生量を引いた数値より求めた。

【0036】結果を表2に示す。

【0037】

【表2】

	TNF $\alpha$ (pg細胞 $10^4$ 個当り)	抑制率 (%)
LPS無処理細胞	54. 8 $\pm$ 2. 1	
LPS処理対照細胞	545 $\pm$ 37	0
化合物1. 処理細胞	333 $\pm$ 29	43

上記表中、\*は $p<0. 01$  (t-検定、対LPS処理対照細胞)

表2から明かの如く、例示化合物番号1. の化合物はLPS処理によるTNF $\alpha$ の産生を有意に低下させた。即ち、例示化合物番号1. の化合物は悪液質の成因物質のひとつと考えられているTNF $\alpha$ の産生を抑制した。

#### 実施例2. TNF応答反応を抑制する作用

TNF応答反応を抑制する作用はD. Weissmanらの方法(D. Weissmann et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90巻、2537-2541頁(1993年))を改良した方法により測定した。

【0038】即ち、ヒト乳癌株MCF-7細胞( $2. 5 \times 10^4$  個)を最終濃度10%牛胎児血清(FCS)および100U/mlのペニシリンおよび100 $\mu\text{g/ml}$ のストレプトマイシンを含むRPMI 1640培地(以下、「10%FCS/RPMI 1640」という)に浮遊させ、24wellマイクロカルチャープレート上に1well当たり $2. 5 \times 10^4$  個の細胞数になるように全量0. 5mlにて添加し、二酸化炭素インキュベーターにて37 $^{\circ}\text{C}$ で2日間培養した。培養後、これを10%FCSを含まないRPMI 1640培地で2回洗浄し、次いで、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)のプロモーター領域であるHIV-LTR (long-terminal repeat) の下流にルシフェラーゼ遺伝子を接続した発現ベクター(HIV-LTR-luciferase)を1well当たり0. 75 $\mu\text{g}$ 、DEAE-デキストランを1well当たり80 $\mu\text{g}$ を全量0. 2mlの10%FCSを含まないRPMI 1640培地に添加し、二酸化炭素インキュベーターにて37

$^{\circ}\text{C}$ で3時間培養した。次いで、10%FCS/RPMI 1640を1well当たり0. 5ml添加し、更に30分間攪拌した後、培地を全て除去した。次いで、10%FCS/RPMI 1640を1well当たり0. 5ml添加し、二酸化炭素インキュベーターにて37 $^{\circ}\text{C}$ で24時間培養した。次いで、TNF (ヒトリコンビナントTNF $\alpha$ ; Genzyme社製)を最終濃度30Units/mlになるように10%FCS/RPMI 1640にて調整し(全量1ml/well)、更に二酸化炭素インキュベーターにて37 $^{\circ}\text{C}$ で24時間培養した。例示化合物番号1. の化合物は最終濃度0. 1 $\mu\text{g/ml}$ 、0. 3 $\mu\text{g/ml}$ 、1 $\mu\text{g/ml}$ 、3 $\mu\text{g/ml}$ および10 $\mu\text{g/ml}$ になるように、TNF添加と同時に添加した(全量1ml/well)。培養終了後、TNF添加によるHIV-LTRのトランジェントな発現誘導をルシフェラーゼ遺伝子(リポーター遺伝子)の発現に置き換えて、測定キット(ニューレポータージーンルシフェラーゼ・アッセイシステム ビッカジーン(商標名、東洋インキ製造(株)社製)を用い、化学発光測定装置(ラボシステム社製)でルシフェラーゼ活性を測定した。なお、結果は平均値 $\pm$ 標準誤差で表示した。有意差検定はt-検定により行い、 $p<0. 05$ を有意と判定した。

【0039】TNF応答反応抑制作用の結果を表3に示す。

【0040】表中、ルシフェラーゼ活性による抑制率(%)は次式から算出した。

【0041】

$$\begin{aligned} & \text{ルシフェラーゼ活性による抑制率 (\%) =} \\ & \frac{\text{ルシフェラーゼ 活性 (TNF + 薬物処理群)} - \text{ルシフェラーゼ 活性 (無処理対照群)}}{\text{ルシフェラーゼ 活性 (TNF 処理対照群)} - \text{ルシフェラーゼ 活性 (無処理対照群)}} \times 100 \end{aligned}$$

100

また、TNF添加により発現誘導されたルシフェラーゼ活性を50%抑制する濃度は常法により求めた。

[0042]

[表3]

	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	ルシフェラーゼ活性	抑制率 (%)
無処理対照群		$3.9 \pm 0.5$	—
TNF処理対照群 (TNF濃度: $30\text{V}/\text{ml}$ )		$35.9 \pm 2.2$	0.0
例示化合物番号1. の 化合物処理群	0.1	$30.0 \pm 1.8$	18.4
	0.3	$24.1 \pm 1.4$	36.9
	1	$26.0 \pm 1.6$	30.9
	3	$23.0 \pm 2.1$	40.3
	10	$14.5 \pm 1.7$	66.9

上記表中、\* は  $p < 0.05$  (対TNF処理対照群)  
\*\* は  $p < 0.01$  (対TNF処理対照群)  
を示す。

【0043】表3から明かの如く、例示化合物番号1.の化合物は、TNF処理によりトランジェントに発現誘導されたルシフェラーゼ活性 (TNFリポーター遺伝子の発現誘導) を用量依存的に抑制した。即ち、例示化合物番号1.の化合物は悪液質の成因物質のひとつとかがえられるTNFに対する応答反応を用量依存的に抑制した。上記TNF応答反応を50%抑制する濃度は4.7  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (10.7  $\mu\text{M}$ ) であった。

【0044】実施例3. 尿中窒素排泄率および窒素平衡改善作用

8週齢の雄ウィスター系今道ラット (約250g) を使用し、りん酸緩衝液-生理食塩水に溶解したTNF  $\alpha$  1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  を2日前に頸静脈に留置したカテーテルから1  $\mu\text{g}/\text{時間}/\text{kg}$  の流量で24時間持続注入した。また、正常対照群 (以下、「正常対照群」という) には

【0045】更に、TNF投与群には例示化合物番号

1.の化合物 100mg/2mlを0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) に懸濁し、TNF  $\alpha$  注入開始直後に 100mg/kgの量を経口投与した (以下、「例示化合物番号1.の化合物投与群」という)。TNF投与の対照群には同量の0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) 溶液を投与した (以下、「TNF投与対照群」という)。TNF  $\alpha$  注入開始時から24時間の摂餌量と尿量を測定した。尿中窒素窒素は「尿中窒素窒素」 (和光純薬工業 (株) 製) にて測定した。なお、餌中の窒素含量 (粗蛋白含量  $\times$  蛋白質中の窒素含量) から尿中窒素排泄量を引いた値を窒素平衡 (Nitrogen Balance) とした。

【0046】測定数値は平均値  $\pm$  標準誤差で示した。

【0047】結果を表4に示す。

【0048】結果から、TNF投与対照群と例示化合物番号1.の化合物投与群とを比較し、t-検定法により、 $p < 0.05$  を有意と判定した。

【0049】

[表4]

	例数	尿中窒素排泄率 (mg/100g体重)	窒素平衡 (mg/100g体重)
正常対照群	5	$86.5 \pm 3.0$	$59.0 \pm 14.7^{**}$
TNF投与対照群	5	$78.6 \pm 3.9$	$-35.8 \pm 10.2$
例示化合物番号1.の化合物投与群	5	$65.3 \pm 4.3$	$17.0 \pm 9.6^{**}$



上記表中、

・ は  $p < 0.05$  (対TNF投与対照群)、

・ ・ は  $p < 0.01$  (対TNF投与対照群)、

を示す。

【0050】表4から明かの如く、例示化合物番号1.の化合物はTNF投与時に示された尿中窒素排泄率を有意に改善し、摂餌量等で補正したTNF投与により負となった窒素平衡を正側に転じることを示した。即ち、例示化合物番号1.の化合物は悪液質の成因物質のひとつと考えられているTNF投与により生じた蛋白質の異化

#### 製剤例1. カプセル剤

例示化合物番号1.の化合物

乳 糖

トウモロコシ澱粉

ステアリン酸マグネシウム

100 mg

168.3 mg

70 mg

1.7 mg

#### 全 量

340.0 mg

上記処方 of 粉末を混合し、20メッシュのふるいを通した後、この粉末 340mg を 2号ゼラチンカプセルに入れ、カプセル剤とした。

【0054】

【発明の効果】本発明の前記一般式(I)を有する化合物またはその薬理上許容される塩は、TNFの産生を抑制すること、TNFの応答反応を抑制すること、およびTNF投与により生じた蛋白質の異化作用を抑制する等

作用を抑制した。

【0051】試験例1. 急性毒性

急性毒性を常法に従って測定した。即ち、ddyマウス(雄)3匹を用いた。これらに例示化合物番号1.の化合物を300mg/kg量経口投与して5日間観察したが、いずれも生存した。

【0052】同様に、例えば例示化合物番号2、3、4、10の化合物の急性毒性は経口投与でいずれも300mg/kg以上であった。

【0053】

の、優れた改善作用を示した。従って、本発明の前記一般式(I)を有する化合物またはその薬理上許容される塩は、癌、感染症等に伴って生じる種々の悪液質の改善剤として有用であり、その結果、例えば化学療法、放射線療法、外科手術等の耐久度を上げ、患者のクオリティオブライフの改善、死亡率の軽減等に役立つものである。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>6</sup>

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

ADZ

AEA

AEG

C07D417/12

311

//(C07D417/12

311:58

277:34 )

(72)発明者 小林 知雄

東京都品川区広町1丁目2番58号 三共株式会社内

(72)発明者 大隅 潤

東京都品川区広町1丁目2番58号 三共株式会社内

(72)発明者 寺西 宗広

静岡県袋井市堀越717 三共株式会社内

(72)発明者 吉岡 孝雄

東京都品川区広町1丁目2番58号 三共株式会社内

(72)発明者 蔵方 慎一

東京都品川区広町1丁目2番58号 三共株式会社内

(72)発明者 龍田 融

東京都品川区広町1丁目2番58号 三共株式会社内